

脊髓损伤的病理生理及治疗进展

曾智谋,张 寿,刘亦恒

(中南大学湘雅医学院附属海口医院骨科中心,海南 海口 570208)

【摘要】 脊髓损伤(SCI)是中枢神经系统的严重创伤,致残率和病死率高,不仅给患者造成了严重不良后果,也让社会和家庭面临巨大的负担。SCI后复杂的病理生理过程加重了神经功能障碍,并使得脊髓再生与功能恢复困难。近年来,脊髓损伤机制研究的深入以及干细胞技术的发展为治疗SCI提供了新的思路和方法。

【关键词】 脊髓损伤;继发性损伤;细胞移植;联合治疗

【中图分类号】 R744 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2013)14-2105-04

脊髓损伤(Spinal cord injury, SCI)通常导致患者损伤平面以下感觉、运动以及括约肌功能障碍,是引起年轻患者瘫痪的主要原因之一^[1]。目前研究认为,脊髓损伤后各种病理变化引起神经元细胞大量丢失和局部胶质瘢痕形成,导致患者功能缺失及恢复困难。基于这些损伤机制的研究,选择合适的治疗方法促进神经再生和功能恢复,为SCI的治疗带来了新希望。本文就脊髓损伤后的病理生理及相关治疗综述如下:

1 脊髓损伤的病理生理

目前已有大量脊髓继发性损伤机制的文献报道,但多数研究都比较局限,不能全面地反映SCI的病理生理过程^[2-5]。在20多种相对明确的继发性损伤机制报道中,研究相对较多的方面主要有以下几种,各机制间相互影响、相互促进,加重脊髓损伤。

1.1 局部血管紊乱 局部血管改变和缺血被认为是脊髓继发性损伤最重要的机制之一。脊髓损伤后血管性因素引起的局部变化主要包括:出血、缺血再灌注损伤和微循环障碍。Sekhon等^[6]研究表明脊髓急性创伤后早期出血明显,尤其在灰质中表现得尤为突出,可引起受损部位的组织坏死和脊髓软化。Bao等^[7]和Nagel等^[8]在实验中都发现:氧自由基在缺血期产生,并在再灌注的早期达到一个峰值,进而作用于血管内皮,加重局部血管紊乱。微循环障碍主要表现在毛细血管和小静脉,表现为血管通透性增加、局部水肿和血管内血栓形成,同时未受机械性破坏的周边正常血管也发生痉挛性改变,最终引起局部低灌注和组织缺血。因此,在损伤早期,除了恢复脊柱的稳定性外还要积极恢复脊髓的正常血液循环,减少因血管紊乱而引起的继发性损伤。

1.2 损伤后免疫炎症性反应 免疫炎症反应是

大多数组织损伤时的自我防御和修复机制,但过度反应就会破坏正常的组织。Rossignol^[9]报道通过控制外部条件能使炎症反应处于有利于脊髓损伤修复的阶段,否则,炎症反应会加速细胞坏死、阻碍轴突生长。研究表明参与脊髓损伤后的炎症反应细胞主要有以下四种:中性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞和小胶质细胞^[10]。Anderson^[11]在观察中枢神经系统创伤后炎症反应时发现,中性粒细胞首先渗出血管到达损伤部位,清除组织碎片,分泌细胞因子激活其他炎症细胞和小胶质细胞,引起神经元破坏;同时,单核细胞急性创伤后随即渗入损伤部位,分化形成巨噬细胞,活化的巨噬细胞和小胶质细胞可分泌多种细胞因子、生长因子和自由基,或促进修复或加重损伤。淋巴细胞在脊髓损伤中的作用目前还存在争议,根据淋巴细胞加重轴突损伤及脱髓鞘并导致功能缺失的现象,Popovich等^[12]认为淋巴细胞具有破坏性的特点。也有研究认为淋巴细胞并不是一个病态的标志,相反,它对髓神经具有保护作用。总之,SCI后上述炎症细胞所表现出来的整体反应往往不能起到修复组织的效果,所以,早期控制炎症反应对于减少继发损伤和促进功能恢复具有重要意义。

1.3 自由基释放和脂质过氧化 活性氧(ROS)和活性氮(RNS)的形成是SCI后病理生理过程中另一个重要的特点^[13-14]。Endres等^[15]报道了ROS和RNS在SCI中引发损伤的机制,高活性的羟基自由基(-OH)一旦形成,即与多种细胞成分发生反应,包括膜磷脂上的多不饱和脂肪酸,而一氧化氮(-NO)作为血管反应和神经信号一个重要的调节分子,通过与O₂发生反应,形成过氧亚硝基,启动脂质过氧化。Nigam等^[16]发现当细胞膜发生脂质过氧化后,可引起膜结构破坏、流动性和渗透性的变化,代谢受抑制并

影响膜内外离子传输。Sullivan 等^[17]还报道了线粒体发生脂质过氧化后的病理改变,不仅会引起自身的损伤,还能通过产生大量活性氧,反作用于自身结构和周边组织,如此形成一个恶性循环。另一项研究表明自由基除了引起膜结构过氧化,还能引起细胞内钙超载,激活细胞内钙依赖性蛋白酶,分解细胞骨架蛋白^[14]。因此,急性脊髓损伤后,活性氧和活性氮等自由基多方面作用,引起细胞广泛性破坏和局部组织损伤加重。

1.4 兴奋性谷氨酸中毒和离子失衡 谷氨酸是中枢神经系统主要的兴奋性神经递质,损伤后随即大量表达并通过离子型受体和代谢型受体发挥作用。Xu 等^[13]研究发现 SCI 后细胞凋亡机制时离子型谷氨酸受体 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDARs)与谷氨酸结合后,离子通道开放,胞外钙内流,胞内存储钙离子释放入胞浆,从而使细胞内钙离子浓度迅速升高,激发大量钙依赖反应,严重改变细胞代谢状态,引起神经元细胞坏死或凋亡。在中枢神经系统中,神经元细胞和少突胶质细胞膜表面表达大量谷氨酸受体,易发生谷氨酸兴奋性中毒,引起损伤周围的神经元凋亡、轴突脱髓鞘和传导阻滞。

1.5 细胞凋亡和轴突脱髓鞘 细胞凋亡是指程序性细胞死亡,是脊髓损伤后迟发性神经细胞死亡的重要原因,是一种主动的、受细胞内某些死亡基因控制的过程^[18]。Guest 等^[19]通过研究发现脊髓损伤后细胞凋亡主要涉及神经元细胞、小胶质细胞、少突胶质细胞和星形胶质细胞,其中少突胶质细胞更容易出现凋亡,它在脊髓损伤后表达相关受体而启动了细胞凋亡。Hall 等^[20]报道脱髓鞘后轴突直接暴露自由基和炎症因子等有害环境中,引起神经元损伤和轴突传导功能障碍。所以,减少细胞凋亡、促进髓鞘形成成为治疗 SCI 的又一突破口。

2 脊髓损伤的治疗

2.1 原发性损伤修复 脊髓的原发性损伤严重程度由当时受伤时的环境决定,但是急性创伤后导致脊柱不稳,可反复引起脊髓机械性创伤,扩大原发性损伤的范围。手术治疗不仅能解除脊髓压迫,还能通过内固定保持脊柱稳定性,把原发损伤控制在最小的范围内。

2.2 继发性损伤修复 针对脊髓损伤后的病理生理变化,利用药物来控制继发性损伤是促进脊髓修复最直接的方式,比较常用的几类药物主要有以下几种:①激素:皮质固醇类激素尤其是大剂量甲基强的松龙治疗脊髓损伤已在临床上获得了确切的疗效,其

主要作用机制:减轻水肿和炎症反应,减少自由基和兴奋性谷氨酸的释放,提高细胞膜的稳定性^[21]。②神经节苷脂(Gangliosides)是一类含唾液酸的膜糖脂的总称,主要通过稳定膜的结构与功能,减少神经细胞凋亡,促进 SCI 后神经功能的恢复。③谷氨酸受体拮抗剂:包括脊髓损伤在内的创伤和非创伤性中枢神经系统改变中,谷氨酸兴奋性受体都明显地被激活。研究表明 NMDA 受体拮抗剂,如 MK801 和 gacyclidine (GK11),在脊髓损伤的动物实验中显示出重要的神经保护功能^[22-23]。然而谷氨酸在中枢神经系统中广泛的分布,使得 NMDA 受体拮抗剂不能作用于特定位点而产生许多副作用,这限制了它在临床上的应用。④离子通道阻滞剂:钙离子通道阻滞剂是一类非谷氨酸受体拮抗剂,与 NMDA 受体拮抗剂作用类似,减少由钙内流引起的一系列继发性损伤,并增加局部的血流量,减少细胞凋亡。针对 SCI 后的病理改变,使用上述药物可以明显地减轻脊髓继发性损伤,为后期修复提供适宜的条件。

2.3 再生修复 神经元坏死后形成的胶质瘢痕和空洞阻碍了神经轴突的生长,这些不可逆的病理过程是治疗 SCI 最大的障碍。近年来,多项研究都证明了细胞移植修复损伤脊髓的可行性,通过细胞移植增加脊髓神经数量、减少胶质瘢痕和空洞的形成已为可能^[24-27]。目前,研究表明^[28]细胞移植治疗脊髓损伤的作用机制主要包括:①分化为神经元,替代受损的神经元细胞;②分化为少突胶质细胞,包裹再生轴突形成髓鞘;③分泌多种神经生长因子,促进内源性神经元细胞及移植细胞的生长;④改善损伤局部抑制性微环境。Vaquero 等^[29]报道,骨髓间充质干细胞、神经干细胞、胚胎干细胞、嗅鞘细胞和雪旺细胞是现在细胞移植主要的种子细胞,其中,骨髓间充质干细胞研究应用最为广泛,不仅可以直接替代损伤的神经细胞和少突胶质细胞,还通过免疫调节、释放生长因子和细胞因子、促进血管生成、提供适宜的生长基质和控制空洞形成等作用为限制损伤扩大和促进再生创造一个良好的环境。

2.4 联合治疗 脊髓损伤后再生困难与缺乏合适的微环境有关,主要有两个方面:①缺乏神经营养因子;②局部抑制再生的分子存在。所以,脊髓损伤后单纯通过细胞移植,难以达到满意的神经功能恢复,移植细胞的存活率往往不高;而通过联合一些神经营养因子或去除抑制性微环境的措施,可以明显提高移植细胞的存活率,促进损伤脊髓的再生修复。

2.4.1 细胞移植联合神经营养因子 细胞移植

联合神经营养因子是目前治疗脊髓损伤最常用的联合治疗措施。Hurtado等^[30]报道BDNF和D15都具有促进再生、减少中枢神经中轴突的凋亡、当转染到雪旺细胞后与细胞一起共同恢复运动功能的作用。研究表明^[31-32]神经干细胞移植联合FGF-2/EGF或者NT-3/BDNF静脉注射可以显著地促进少突胶质细胞分化、髓鞘形成、轴突生长,而且术后BBB评分,斜坡实验和电生理结果都获得明显地改善。然而,并不是所有的生长因子和细胞的联合都能起到积极的作用,因此在选择这些因子和移植细胞联合治疗时应更加慎重。Bretzner等^[33]研究证实脑源性神经生长因子BDNF联合嗅鞘细胞移植,不但没有修复损伤组织,反而使损伤范围扩大,加重了脊髓的损伤。因此,研究各神经营养因子的作用机制对于合理选择联合治疗措施具有重要的临床意义。

2.4.2 细胞移植联合硫酸软骨素酶(ChABC) 由胶质瘢痕分泌、存在于胞外基质中的硫酸软骨素蛋白多糖(CSPGs)是一种非常重要的轴突再生抑制因子,对轴突的生长具有抑制作用^[34]。硫酸软骨素酶(ChABC)是一种细菌胞外裂解酶,能特异性破坏大部分CSPGs的葡胺聚糖链(GAG),降解胶质瘢痕,为轴突在损伤区的生长提供适宜的微环境。随着对硫酸软骨素酶的深入研究,目前瘢痕降解已成为治疗脊髓损伤一项重要的措施。Vavrek等^[35]将硫酸软骨素酶、雪旺细胞和嗅鞘细胞联合应用于脊髓损伤的模型中,观察到轴突的生长、周围髓鞘的形成和运动功能都有明显改善。Karimi-Abdolrezaee等^[32]通过实验将ChABC、神经干细胞和生长因子一起注入损伤部位,细胞移植效率明显提高,少突胶质细胞分化增加。脊髓损伤后神经元的丢失和轴突的再生困难是功能难以恢复的两大主要原因,所以目前联合应用细胞移植和硫酸软骨素酶(ChABC)治疗脊髓损伤成为新的热点。

2.4.3 基因治疗 基因治疗分为体外基因转染和体内基因治疗,前者目前研究较多,它是通过将目的基因转染入体外培养的细胞,然后筛选出目的基因阳性表达的细胞并移植入损伤区域。目前用于基因治疗的目的基因主要是以神经生长因子NGF为代表的NTFs,能促进和维持神经元生长、生存、分化,并支持受损神经元的存活。与上述两种联合方法相比,基因治疗最大的优势在于可以长期、稳定地表达目的因子,持续作用于损伤部位,使移植部位的微环境稳定在一个有利于细胞生长和组织修复的阶段,从而达到明显改善神经再生效果的目的。

2.4.4 细胞联合移植 在脊髓损伤的治疗中,已有大量的研究报道联合多种细胞移植较单独应用细胞移植更能促进脊髓的微结构改善,后期功能恢复更加明显。Fouad等^[34]联合雪旺细胞和嗅鞘细胞治疗SCI,结果轴突的生长更加迅速,通过损伤区的轴突数量也明显增多,前者作为轴突的生长桥接结构,促使轴突长入移植区,后者引导轴突通过损伤区域。Guo等^[36]将神经干细胞和雪旺细胞联合移植,观察到实验动物的BBB评分和电生理结果较单独移植增高。细胞联合移植治疗脊髓损伤,改善神经功能已有肯定的报道,但目前有关细胞联合移植的报道仍较少,还需进一步研究。

3 小结

脊髓损伤的病理生理改变是多种机制共同作用的结果,引起神经元大量丢失、神经营养因子缺乏和抑制因子异常表达,使得损伤后神经再生和功能恢复困难。通过研究SCI病理生理才能有针对性地抑制各种损伤因素,减少脊髓破坏,促进神经修复。在治疗SCI时,联合措施突破了传统治疗方式的局限,多阶段多方向地调控脊髓微环境变化,为修复创造有利的条件。相信通过对脊髓损伤的病理生理和各种联合治疗的研究,我们能够为临床治疗SCI提供合理、有效的方法。

参考文献

- [1] Bareyre FM. Neuronal repair and replacement in spinal cord injury [J]. *JNeurol Sci*, 2008, 265(1-2): 63-72.
- [2] Maier IC, Schwab ME. Sprouting, regeneration and circuit formation in the injured spinal cord: factors and activity [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2006, 361(1473): 1611-1634.
- [3] Baptiste DC, Fehlings MG. Update on the treatment of spinal cord injury [J]. *Prog Brain Res*, 2007, 161: 217-233.
- [4] Fehlings MG, Nguyen DH. Immunoglobulin G: a potential treatment to attenuate neuroinflammation following spinal cord injury [J]. *Clin Immunol*, 2010, 30(1): 109-112.
- [5] Profyris C. Degenerative and regenerative mechanisms governing spinal cord injury [J]. *Neurobiol Dis*, 2004, 15(3): 415-436.
- [6] Sekhon LH, Fehlings MG. Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2001, 26(24): 2-12.
- [7] Bao F, Dekaban GA, Weaver LC, et al. Anti-CD11d antibody treatment reduces free radical formation and cell death in the injured spinal cord of rats [J]. *Neurochem*, 2005, 94(5): 1361-1373.
- [8] Nagel S, Su Y, Horstmann S, et al. Minocycline and hypothermia for reperfusion injury after focal cerebral ischemia in the rat: effects on BBB breakdown and MMP expression in the acute and subacute phase [J]. *Brain Res*, 2008, 1188: 198-206.
- [9] Rossignol S. Spinal cord injury: time to move? [J]. *Neurosci*, 2007, 27(44): 11782-11792.

- [10] Bareyre FM, Schwab ME. Inflammation, degeneration and regeneration in the injured spinal cord: insights from DNA microarrays [J]. *Trends Neurosci*, 2003, 26(10): 555-563.
- [11] Anderson AJ. Mechanisms and pathways of inflammatory responses in CNS trauma: spinal cord injury [J]. *Spinal Cord Med*, 2002, 25(2): 70-79.
- [12] Popovich PG, Jones TB. Manipulating neuroinflammatory reactions in the injured spinal cord: back to basics [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2003, 24(1): 13-17.
- [13] Xu W, Chi L, Xu R, et al. Increased production of reactive oxygen species contributes to motor neuron death in a compression mouse model of spinal cord injury [J]. *Spinal Cord*, 2005, 43(4): 204-213.
- [14] Xiong Y, Rabchevsky AG, Hall ED. Role of peroxynitrite in secondary oxidative damage after spinal cord injury [J]. *Neurochem*, 2007, 100(3): 639-649.
- [15] Endres M, Laufs U, Liao JK, et al. Targeting eNOS for stroke protection [J]. *Trends Neurosci*, 2004, 27(5): 283-289.
- [16] Nigam S, Schewe T. Phospholipase A(2)s and lipid peroxidation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1488(1-2): 167-181.
- [17] Sullivan PG, Krishnamurthy S, Patel SP, et al. Temporal characterization of mitochondrial bioenergetics after spinal cord injury [J]. *Neurotrauma*, 2007, 24(6): 991-999.
- [18] Raff M. Cell suicide for beginners [J]. *Nature*, 1998, 396(6707): 119-122.
- [19] Guest JD, Hiester ED, Bunge RP, et al. Demyelination and Schwann cell responses adjacent to injury epicenter cavities following chronic human spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2005, 192(2): 384-393.
- [20] Hall ED, Traystman RJ. Role of animal studies in the design of clinical trials [J]. *Front Neurol Neurosci*, 2009, 25: 10-33.
- [21] Schwab JM, Brechtel K, Schwab JM, et al. Experimental strategies to promote spinal cord regeneration--an integrative perspective [J]. *Prog Neurobiol*, 2006, 78(2): 91-116.
- [22] Gaviria M, Privat A, d'Arbigny P, et al. Neuroprotective effects of a novel NMDA antagonist, Gacyclidine, after experimental contusive spinal cord injury in adult rats [J]. *Brain Res*, 2000, 874(2): 200-209.
- [23] Gaviria M, Privat A, d'Arbigny P, et al. Neuroprotective effects of gacyclidine after experimental photochemical spinal cord lesion in adult rats: dose-window and time-window effects [J]. *Neurotrauma*, 2000, 17(1): 19-30.
- [24] Wright KT, El Masri W, Osman A, et al. Concise review: Bone marrow for the treatment of spinal cord injury: mechanisms and clinical applications [J]. *Stem Cells*, 2011, 29(2): 169-178.
- [25] Lindvall O, Kokaia Z. Stem cells in human neurodegenerative disorders--time for clinical translation? [J]. *Clin Invest*, 2010, 120(1): 29-40.
- [26] Nandoe Tewarie RS, Hurtado A, Bartels RH, et al. Stem cell-based therapies for spinal cord injury [J]. *Spinal Cord Med*, 2009, 32(2): 105-114.
- [27] Yoon SH, Shim YS, Park YH, et al. Complete spinal cord injury treatment using autologous bone marrow cell transplantation and bone marrow stimulation with granulocyte macrophage-colony stimulating factor: Phase I/II clinical trial [J]. *Stem Cells*, 2007, 25(8): 2066-2073.
- [28] De Bosscher K, Vanden Berghe W, Haegeman G. Mechanisms of anti-inflammatory action and of immunosuppression by glucocorticoids: negative interference of activated glucocorticoid receptor with transcription factors [J]. *Neuroimmunol*, 2000, 109(1): 16-22.
- [29] Vaquero J, Zurita M. Bone marrow stromal cells for spinal cord repair: a challenge for contemporary neurobiology [J]. *Histol Histo-pathol*, 2009, 24(1): 107-116.
- [30] Hurtado A, Moon LD, Maquet V, et al. Poly (D,L-lactic acid) macroporous guidance scaffolds seeded with Schwann cells genetically modified to secrete a bi-functional neurotrophin implanted in the completely transected adult rat thoracic spinal cord [J]. *Biomaterials*, 2006, 27(3): 430-442.
- [31] Bonner JF, Blesch A, Neuhuber B, et al. Promoting directional axon growth from neural progenitors grafted into the injured spinal cord [J]. *Neurosci Res*, 2010, 88(6): 1182-1192.
- [32] Karimi-Abdolrezaee S, Eftekharpour E, Wang J, et al. Synergistic effects of transplanted adult neural stem/progenitor cells, chondroitinase, and growth factors promote functional repair and plasticity of the chronically injured spinal cord [J]. *Neurosci*, 2010, 30(5): 1657-1676.
- [33] Bretzner F, Liu J, Currie E, et al. Undesired effects of a combinatorial treatment for spinal cord injury--transplantation of olfactory ensheathing cells and BDNF infusion to the red nucleus [J]. *Eur J Neurosci*, 2008, 28(9): 1795-1807.
- [34] Fouad K, Schnell L, Bunge MB, et al. Combining Schwann cell bridges and olfactory-ensheathing glia grafts with chondroitinase promotes locomotor recovery after complete transection of the spinal cord [J]. *Neurosci*, 2005, 25(5): 1169-1178.
- [35] Vavrek R, Pearse DD, Fouad K. Neuronal populations capable of regeneration following a combined treatment in rats with spinal cord transection [J]. *Neurotrauma*, 2007, 24(10): 1667-1673.
- [36] Guo J, Zeng Y, Li H, et al. Cotransplant of neural stem cells and NT-3 gene modified Schwann cells promote the recovery of transected spinal cord injury [J]. *Spinal Cord*, 2007, 45(1): 15-24.

(收稿日期:2013-03-18)